Agilent サンプリーク QuEChERS EN キットを使用した GC/MS によるリンゴ中の残留農薬分析

アプリケーションノート

食品安全

著者

Limian Zhao, Philip L. Wylie and
Joan Stevens
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19809-1610
USA

概要

本アプリケーションノートでは、欧州規格 (EN) に記載のあるサンプル前処理法、QuEChERS (quick (迅速)、easy (簡単)、cheap (低価格)、effective (効果的)、rugged (高耐久性)、safe (安全)) を使用した、リンゴに残留するGCで分析可能な 17 種類の農薬の抽出とクリーンアップへの応用について説明します。このメソッドには、水/アセトニトリル系での初期抽出、塩類付加後の抽出/分離ステップ、分散固相抽出 (分散 SPE) を使用したクリーンアップステップが伴います。今回はサンプル抽出後、2 種類の分散 SPE クリーンアップ法 (1 mL または 6 mL の上澄みの採取) を同時に評価しました。リンゴ抽出液に含まれる目的の農薬の分析には、選択イオンモニタリング (SIM) モードのガスクロマトグラフィー/質量分析法 (GC/MS) を使用しました。その結果、回収率および再現性の点で、このメソッドの有効性が確認できました。リンゴ中の農薬の定量限界 LOQ (Limit of quantitation) は、10 ng/g です。このアプリケーションでは、Agilent サンプリーク QuEChERS キットを使用し、スクリーニング対象のすべての農薬について最大残留基準値 MRL (Maximum residue limits) より十分低い結果が得られました。回収率の実験は添加レベル10、50、および 200 ng/g で行い、回収率は、68 ～ 112 % (平均 86.0 %) で、RSD は 15 % 未満 (平均 4.7 %) でした。

Agilent Technologies

はじめに

2003 年、USDA の科学者が、QuEChERS メソッドを初めて農薬分析に導入しました。[1]その後、抽出困難な農薬に対処するために、緩衝剤（バッファ）を使うことで、このメソッドは改良されました。[2] EN メソッド 15662:2007 は、QuEChERS メソッドの欧州版です。[3, 4] このメソッドの手順は、アセトニトリル抽出を行ったのち、無水硫酸マグネシウム、塩化ナトリウムおよびクエン酸バッファを使用してサンプルを塩析し、液液分配を促進します。その後、脂肪酸を除去する一級二級アミン (PSA) と抽出液中の水分を減らす無水硫酸マグネシウムを使用して、分散固相抽出 (分散 SPE) によりクリーンアップします。溶媒を混合し、遠心分離したのち、上澄み液を分析に使用します。

EN と AOAC は類似したメソッドですが、両者にはいくつか異なる点があります。EN メソッドでは、抽出ステップで使用する緩衝剤に塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、およびクエン酸 2 ナトリウム 1.5 水和物を使用しますが、AOAC の抽出ステップでは、酢酸ナトリウムを使用します。また、分散 SPE ステップにおいて、EN メソッドは、抽出液 1 mL に対し 25 mg の PSA を使用しますが、AOAC メソッドでは、抽出液 1 mL に対し 50 mg の PSA を使用します。

ガスクロマトグラフィー/質量分析法 (GC/MS) は、長年広く農薬分析に応用されています。多くの農薬は、揮発性または半揮発性で、GC で分析可能な化合物を形成します。以前のアプリケーションノートでは、検出と定量に LC/MS/MS を使用して、Agilent サンプリーク EN 抽出キットとサンプリーク EN SPE キットについて、リンゴ中の極性農薬の分析に関する性能を評価しました。[5] 今回の実験では、一般的な果実と野菜用のサンプリーク EN 抽出キット (部品番号 5982-5650) およびサンプリーク EN SPE キット (部品番号 5982-5021 および 5982-5056) について、揮発性および準揮発性農薬の抽出に関する性能を評価しました。分析は、GC/MS で実施しました。非極性有機塩素系農薬 (OC)、有機リン酸系農薬 (OP)、および有機窒素系農薬 (ON) などに分類される GC で分析可能な農薬を 17 種類選びました。これらの農薬の MRL (最大残留基準値) は、農薬の分類と食品のマトリックスの関係で決まり、10 ng/g 以上に設定されています。表 1 に、リンゴに含まれるこれらの農薬の化学的情報と規制情報を示します。

実験

試薬および化学薬品類

使用した試薬および溶媒は、すべて HPLC グレードまたは分析グレードのものです。アセトニトリル (ACN) とメタノールは、Honeywell 社 (米国ミシガン州ムスカゴン) のものです。ギ酸 (FA) は、Fluka 社 (ドイツSleinheim) のものです。農薬標準試料と内部標準 (リン酸トリフェニル、TPP) は、Sigma-Aldrich 社 (米国ミズーリ州セントルイス)、Chem Service 社 (米国ペンシルバニア州ウェストチェスター)、または Ultra Scientific 社 (米国ロードアイランド州ノースキングストン) から購入しました。

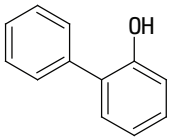
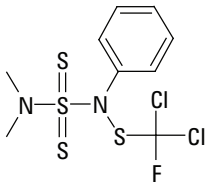
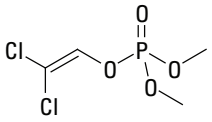
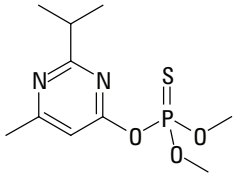
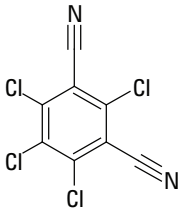
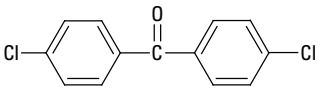
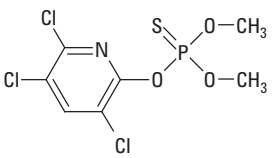
溶液と標準試料

標準試料および内部標準 (IS) 原液 (2 mg/mL) は、それぞれ、メタノール中で作成し、–20 °C で保存しました。1、5 および 20 µg/mL の 3 種類の QC スパイク溶液を、1:1 の ACN/H_2O (ギ酸 0.1 %) で毎日新たに用意しました。ACN (ギ酸 0.1 %) 中の 2.5 µg/mL 標準溶液 (17 種類の農薬) を使用して、適度な希釈によって、マトリックスブランク抽出液の検量線を準備しました。1:1 の ACN/H_2O (ギ酸 0.1 %) 中の 10 µg/mL の TPP スパイク溶液を内部スパイク標準 (IS) として使用しました。

装置と薬剤

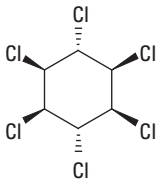
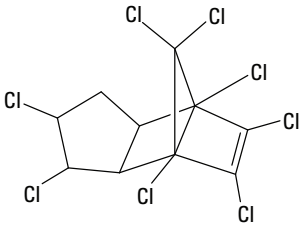
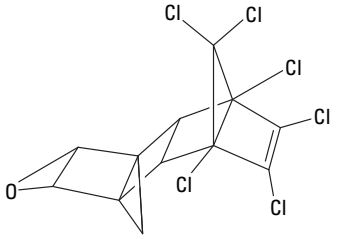
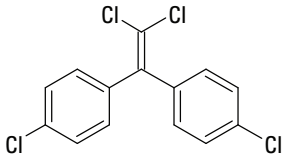
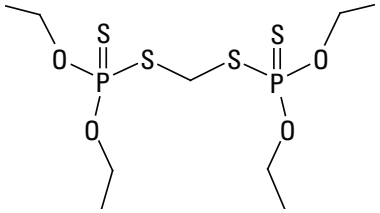
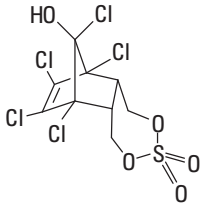
- Agilent ガスクロマトグラフ (Agilent Technologies Inc.)
- Agilent 5975C 質量分析計 (Agilent Technologies Inc.)
- サンプリーク QuEChERS EN 抽出キット、部品番号 5982-5650 (Agilent Technologies Inc.,)
- 一般的な果実と野菜用のサンプリーク QuEChERS EN SPE キット、部品番号 5982-5021 および 5982-5056 (Agilent Technologies Inc.,)
- CentraCL3R 遠心分離機 (Thermo IEC 社, 米国)
- 溶媒ボトルトップディスペンサ (VWR 社, 米国)
- Eppendorf 微量遠心分離機 (Brinkmann Instruments 社, 米国)
- グラインダー (St Joseph 社, 米国)

表 1.　農薬の化学的情報と規制情報 [6-9]

名称	分類	Log P	pKa	構造	リンゴ中の MRL (ng/g)*
σ-フェニルフェノール	フェノール	3.18	9.4		20
ジクロフルアニド	サルファミド	3.7	NA		5000
ジクロルボス	有機リン系農薬	1.9	NA		10
ダイアジノン	有機リン系農薬	3.69	2.6		100
クロロタロニル	クロロニトリル	2.94	NA		10
ジクロロベンゾフェノン	有機塩素系農薬	4.44	NA		500
クロルピリホスメチル	有機塩素系農薬	4.00	NA		500

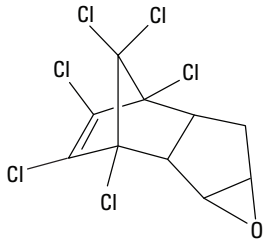
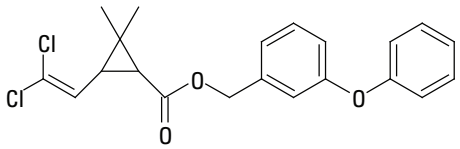
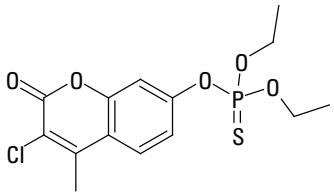
(続く)

表 1.　農薬の化学的情報と規制情報 [6-9]

名称	分類	Log P	pKa	構造	リンゴ中の MRL (ng/g)*
リンデン	有機塩素系農薬	3.69	NA		10
クロルデン	シクロジエン有機塩素系農薬	2.78	NA		20
ディルドリン	塩化炭化水素	3.7	NA		10
DDE	有機塩素系農薬	6.55	NA		50
エチオン	有機リン系農薬	5.07	NA		300
硫酸エンドスルファン	有機塩素系農薬	3.13	NA		50

(続く)

表 1.　農薬の化学的情報と規制情報 [6-9]

名称	分類	Log P	pKa	構造	リンゴ中の MRL (ng/g)*
ヘプタクロルエポキシド	有機塩素系農薬	5.83	NA		10
ペルメスリン	ピレスロイド	6.1	NA		50
クマホス	有機チオリン酸塩	3.86	NA		100

* 表中の MRL の数値は、リンゴの値または他の果実や野菜の最低値です。他の食品では、これより高い場合があります。

機器設定

本実験では、アジレントの農薬分析用 GC/MS メソッドを使用しました。 [10]

GC 条件

注入口	スプリットレス
注入口ライナ	ヘリックスダブルテーパ、不活性処理済み (部品番号 5188-5398)
キャリアガス	ヘリウム
注入口圧力	実行時 20.18 psi (コンスタントプレッシャーモード)、バックフラッシュ時 1.0 psi
注入口温度	250 °C
注入量	1.0 µL
スプリットベントのパージ流量	0.75 分で 30 mL/min
オーブン温度プログラム	70 °C (1 分) ～50 °C/min～ 150 °C (0 分) ～6 °C/min～200 °C (0 分) ～16 °C/min～ 280 °C (6 分)
ポストラン	3 分
キャピラリ・フロー・テクノロジー	Purged Ultimate Union (部品番号 G3186B) – 分析カラムと注入口のバックフラッシュに使用。
Aux EPC ガス	Purged Ultimate Union に配管されたヘリウム
Aux EPC 圧力	実行時 4.0 psi、バックフラッシュ時 80.0 psi
カラム	Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート 15 m × 0.25 mm × 0.25 µm (部品番号 19091S-433UI)
接続部	注入口と Purged Ultimate Union の間 (部品番号 G3186B)
リストリクタ	65 cm × 0.15 mm × 0.15 µm DB-5MS ウルトライナート
接続部	Purged Ultimate Union と MSD の間

MS 条件

チューニングファイル	Atune.u
モード	SIM (設定の詳細は、表 2 を参照してください)
イオンソース、四重極、トランスファライン温度	それぞれ、230 °C、150 °C 、280 °C
溶媒待ち時間	2.30 分
マルチプライヤ電圧	オートチューン電圧

表 2.　GC/MS による 17 種類の農薬の分析に使用した取込条件

分析対象物	SIM	データ採取ウィンドウ (分)	リテンションタイム (RT) (分)
(1)　ジクロルボス	184.9	2.3 – 4.0	2.88
(2)　α-フェニルフェノール	170.1, 169.1	4.0 – 5.0	4.35
(3)　リンデン	180.9, 182.9	5.0 – 6.9	6.67
(4)　ダイアジノン	137.1, 179.1	6.9 – 7.7	7.19
(5)　クロロタロニル	265.9, 263.9	14.65 – 16.0	14.8
(6)　クロルピリホスメチル	285.9, 287.9	7.7 – 8.6	8.25
(7)　ジクロフルアニド	123, 167.0	8.6 – 9.35	9.16
(8)　ジクロロベンゾフェノン	139, 249.9	18.8 – 20.5	19.2
(9)　ヘプタクロルエポキシド	352.8, 354.8	10.0 – 10.4	10.31
(10) γ-クロルデン	372.8, 374.8	10.85 – 11.6	10.97
(11) DDE	245.9, 317.9	10.85 – 11.6	11.21
(12) α-クロルデン	372.374.8	10.85 – 11.6	11.50
(13) ディルドリン	262.9, 264.9	11.0 – 12.3	11.89
(14) エチオン	230.9	12.3 – 13.6	12.97
(15) 硫酸エンドスルファン	273.8	12.3 – 13.6	13.35
TPP (IS：内部標準)	325.1, 326.1	13.6 – 15.0	13.84
(16) ペルメスリン	183.1	15.0 – 23.0	15.69, 15.79
(17) クマホス	362.0, 225.9	15.0 – 23.0	15.83

サンプル調製

サンプル粉砕

有機栽培された無農薬のリンゴを地元のスーパーで購入しました。約 3 ポンドのリンゴを豆程度の大きさのキューブ状に刻みます。表皮は残し、芯は捨てます。刻んだリンゴは、清潔なビニール袋に入れ、-20 °C で一晩冷凍します。時々、袋を揉んで、キューブ同士がくっつかないようにします。翌日、冷凍したリンゴのキューブを必要な量だけ取り出し、十分に混ぜ合わせます。粉砕中、可能であればドライアイスを追加します。サンプルを十分に粉砕し、できるだけ均一になるようにします。完成したサンプルには、リンゴ片がないことを確認します。

抽出/分離

あらかじめ均質化したサンプル 10 g (± 0.1 g) を 50 mL の遠心分離管に入れます。QC サンプルには、100 µL の適切な QC スパイク溶液を添加します。100 µL の 内部標準溶液 (10 µg/mL の TPP) を、ブランクを除くすべてのサンプルに加え、濃度が 100 ng/g になるようにします。遠心分離管にキャップをし、1 分間攪拌します。ディスペンサーを使用して、各遠心分離管に ACN を 10 mL ずつ加えます。再び遠心分離管にキャップをし、1 分間手で振とうします。次に、無水硫酸マグネシウム 4 g、塩化ナトリウム 1 g、クエン酸三ナトリウム 1 g、および クエン酸水素二ナトリウム 1.5 水和物 0.5 g を含む Agilent サンプリーク QuEChERS EN 抽出の塩類パケット (部品番号 5982-5650) を各試験管に直接加えます。あらかじめバッグをよく揉んで、塩類の固まりをほぐしておきます。遠心分離管のネジ山やふちに粉末が残らないようにします。試験管に固くキャップをし、溶媒とサンプル全体がよく混じり合い、結晶の固まりが十分に砕けるように、1 分間手で強く振とうします。サンプルの pH をチェックし、必要なら pH が 5 ～ 5.5 になるように、5M NaOH 溶液で調整します。サンプルの試験管を 4000 rpm で 5 分間遠心分離します。

分散 SPE クリーンアップ

遠心分離後の上部層 (アセトニトリル層) を 1 mL ずつ Agilent サンプリーク QuEChERS EN 分散 SPE の 2 mL 試験管 (部品番号 5982-5021) に移します。または、6 mL ずつ Agilent サンプリーク QuEChERS EN 分散 SPE の 15 mL 試験管 (部品番号 5982-5056) に移します。2 mL の試験管には、25 mg の PSA と 150 mg の無水硫酸マグネシウムが含まれています。また、15 mL の試験管には、150 mg の PSA と 900 mg の無水硫酸マグネシウムが含まれています。試験管に固くキャップをし、1 分間攪拌します。2 mL の試験管は、微量遠心分離機を使用して、13,000 rpm で 2 分間遠心分離します。15 mL の試験管は、通常の遠心分離機を使用して、4000 rpm で 5 分間遠心分離します。その後、上澄み 500 µL の抽出液をオートサンプラ用バイアルに移し、1 % ギ酸/アセトニトリル 25 µL をすぐに加えます。

図 1 に、QuEChERS EN サンプル抽出作業のフローチャートを示します。

結果と考察

サンプリーク QuEChERS キットを使用すると、作業全体が迅速かつ簡単になり、時間と労力の節約になると同時に、一貫性も保証されます。また、分析者 1 人が、40 ～ 50 のサンプルを 2、3 時間で処理することが可能です。Agilent サンプリーク 抽出用塩類は、防湿パッケージを使用しています。これは水分の多い食品サンプルに塩類を直接付加すると発熱反応が起こり、特に揮発性農薬の場合、分析対象物の回収率に影響することがあります。そのため、サンプリーク独自の無水塩類パケットでは、本来の QuEChERS のメソッドにあるように、サンプルに有機溶媒を付加した後で塩類を付加できます。

以前の研究では、LC/MS/MS 分析において、中極性から高極性までの様々な農薬の抽出について、Agilent サンプリーク QuEChERS EN キットは良い性能を示しました。[5] 揮発性および半揮発性農薬は長年広く使用されているため、GC/MS を使用したこれらの農薬の分析に対する、EN キットの性能を評価することは非常に重要です。GC/MS (SIM モード) の選択性は、LC/MS/MS (MRM モード) ほど強くはありません。さらに、QuEChERS で処理した最終サンプルには、食品マトリックスの不純物が少なからず含まれています。これは、ブランクのリンゴ抽出液の GC/MS クロマトグラムで見ることができます。そのため、SIM メソッドをセットアップする際、モニタリングする各化合物の選択イオンを注意して選ぶことが重要です。一般には、最高の感度を実現するために、最も感度の高いイオンを選択しますが、いくつかのケースでは、選択性をあげるために、感度は劣っても、より特徴的なイオンを使用しました。

QuEChERS サンプルの分析に GC/MS を使用する際のもう 1 つの潜在的な問題は、イオン源の汚染と GC カラムの劣化です。QuEChERS の食品サンプルには、通常、沸点の高い不純物が含まれています。これはカラム先端に蓄積し、ピークテーリングとリテンションタイムのシフトの原因となります。時間の経過とともに、これらの不純物は質量分析計 (MS) のイオンソースに移動し、イオンソース汚染の原因となります。特に半極性化合物の場合、連続して QuEChERS サンプルを GC/MS システムに注入すると、感度の減少とピーク形状の変化が観察されます。そのため、カラムバックフラッシュを採用して、MS イオンソースを保護すると同時に、カラムの寿命を延ばします。アジレントのキャピラリ・フロー・テクノロジーを使用すると、カラムバックフラッシュをルーチン化できます [10-12]。様々な種類のキャピラリフローデバイスをこの目的に使用できます。

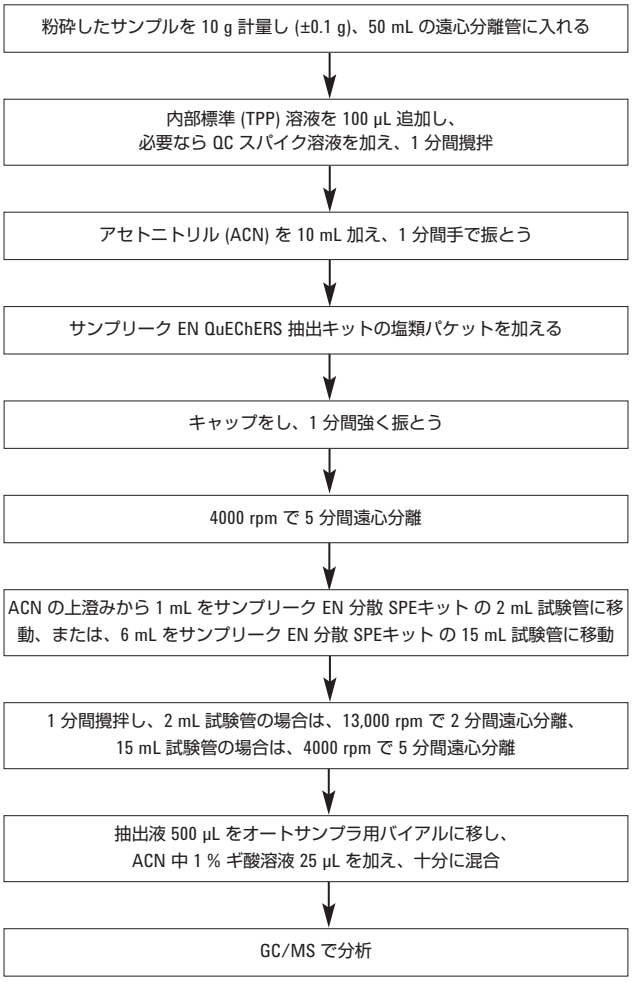


図 1. Agilent サンプリーク QuEChERS EN 抽出作業のフローチャート

この実験では、GC/MS システムは、Purged Ultimate Union を使用しました。分析カラムは、キャピラリフローデバイスに接続しました。短いリストリクタ (65 cm × 0.15 mm × 0.15 µm の DB-5ms ウルトライナートカラム) を使用して、キャピラリフローデバイスと質量分析計をつなぎました。以前のアプリケーションノート [10] に、バックフラッシュシステムを図示しましたが、本実験でも同じものを使用しました。

図 2 (a 、b) に、ブランクのリンゴ抽出液と 50 ng/g 添加したリンゴ抽出液のクロマトグラムを示します。図 2a が示すように、干渉物ピークがブランクのクロマトグラムに見られます。幸い、多くの農薬は共溶出干渉物の影響を受けません。σ-フェニルフェノールのリテンションタイム (ピーク 2) の非常に近くに干渉物の溶出がありますが、分離が出来ていません。ブランク抽出液内のこの干渉物の平均レスポンスは、215 (n=4) です。LOQ (10 ng/g) 内の α-フェニルフェノールの平均レスポン

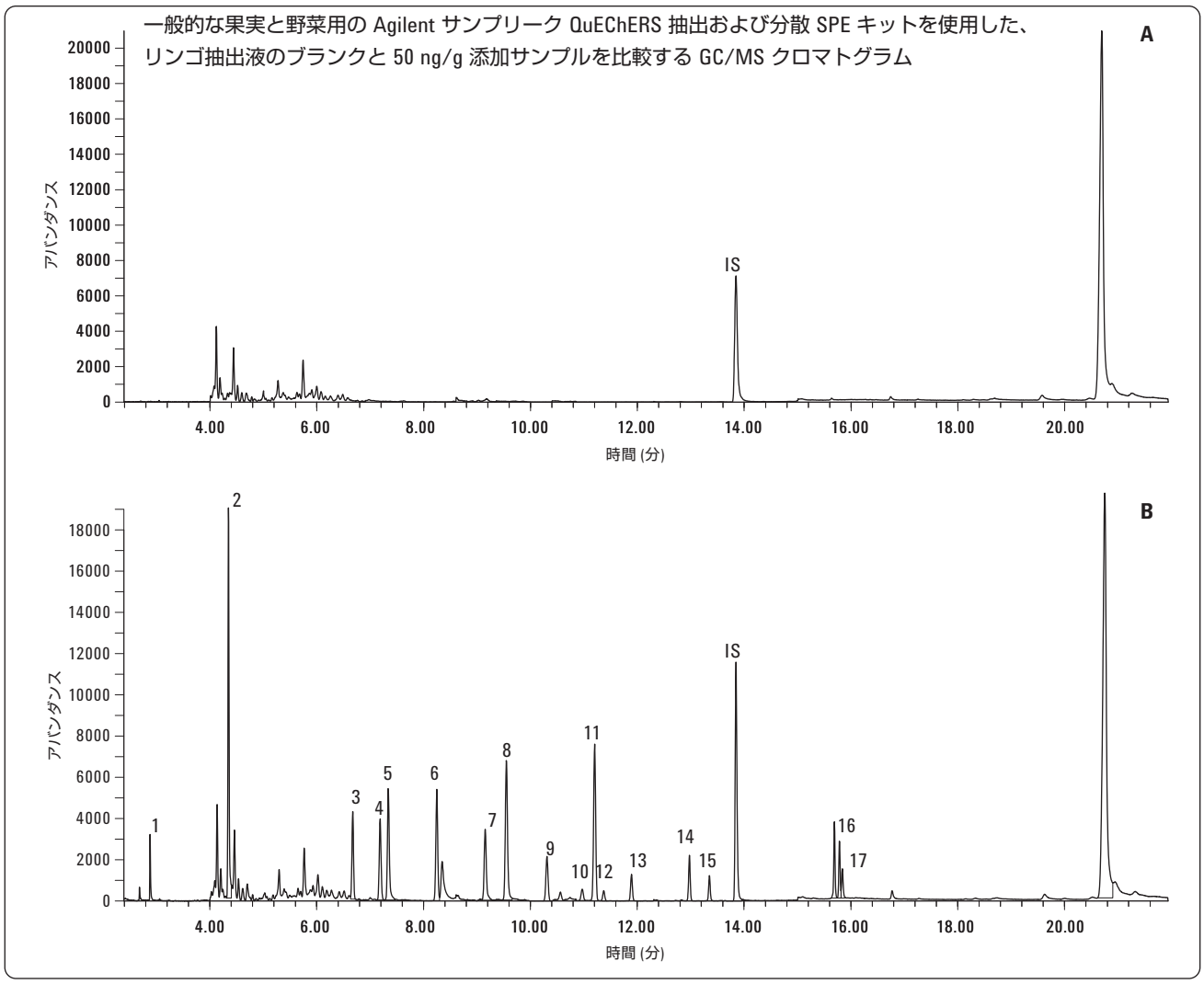


図 2. リンゴ抽出液の GC/MS クロマトグラム(A) リンゴ抽出液のブランク、(B) 50 ng/g 添加リンゴ抽出液。ピーク同定:1. ジクロルボス、2. σ-フェニルフェノール、3. リンデン、4. ダイアジノン、5. クロロタロニル、6. クロルピリホスメチル、7. ジクロフルアニド、8. ジクロロベンゾフェノン、9. ヘプタクロルエポキシド、10. γ-クロルデン、11. DDE、12. α-クロルデン、13. ディルドリン、14. エチオン、15. 硫酸エンドスルファン、16、ペルメスリン、17. クマホス。内部標準. リン酸トリフェニル (TPP)

スは、3196 (n=12) です。干渉物のレスポンスは、LOQ (10 ng/g) サンプルの σ-フェニルフェノールのピークのレスポンスの 20 % 未満です。そのため、この化合物の場合、選択性は条件を満たしているとみなせます。

直線性と定量限界値 (LOQ)

すべての農薬に対して、検量線の直線性の範囲は 0 ～ 400 ng/g です。異なる 2 種類の分散 SPE (1 mL と 6 mL) を使用して、評価と比較を行いました。そのため、それぞれのサイズに用意したマトリックスブランクサンプルから、2 つの検量線が生成されています。検量線は、10、20、50、100、250、および 400 ng/g のレベルで作られました。いずれの場合も、TPP は 100 ng/g で内部標準 (IS) として使用しています。検量線は、分析対象物の濃度比 (分析対象物の濃度/IS の濃度) に対し、分析対象物のレスポンス比 (分析対象物のピーク面積/IS のピーク面積) をプロットして作成しました。表 1 は、農薬に対する 10 ng/g の定量限界 LOQ (10 ng/g または 10 ppb) が、果実や野菜内の農薬の多くの MRL に比べて、十分に小さいことを示しています。検量線は平均レスポンスファクタに回帰しました。表 3 は、1 mL と 6 mL の分散 SPE サンプルに対する直線性とレスポンスファクタ (RF) の相対標準偏差 (RSD) (%) を示します。RF の相対 RSD は、検量線の直線性を評価するための重要なパラメータです。一般に、値が小さいほど曲線の直線性が増し、通常 20 % 未満の RF の相対 RSD なら条件を満たしているといえま

表 3.　リンゴ抽出液中の 17 種類の農薬の直線性

	1 mL の分散 SPE		6 mL の分散 SPE	
分析対象物	**直線範囲**	**RF 相対標準偏差 (%)**	**直線範囲**	**RF 相対標準偏差 (%)**
ジクロルボス	4.53e–001	7.9	5.52e–001	8.6
α-フェニルフェノール	2.41e+000	7.5	2.82e+000	9.3
リンデン	6.79e–001	11.5	8.09e–001	9.2
ダイアジノン	8.35e–001	15.0	9.32e–001	13.6
クロロタロニル	1.39e+000	14.1	1.69e+000	14.1
クロルピリホスメチル	1.32e+000	14.7	1.31e+000	16.5
ジクロフルアニド	1.03e+000	11.7	1.29e+000	12.9
ジクロロベンゾフェノン	6.08e–001	10.0	7.13e–001	10.4
ヘプタクロルエポキシド	5.41e–001	12.4	5.58e–001	12.3
γ-クロルデン	1.77e–001	9.3	1.83e–001	9.1
DDE	2.44e+000	10.7	2.67e+000	9.5
α-クロルデン	1.34e–001	10.0	1.38e–001	9.4
ディルドリン	2.85e–001	9.8	3.09e–001	6.9
エチオン	7.06e–001	27.8	7.30e–001	27.9
硫酸エンドスルファン	2.95e–001	11.2	3.29e–001	11.5
ペルメスリン	8.73e–001	11.8	8.20e–001	17.6
クマホス	2.36e–001	19.0	2.16e–001	28.7

す。表 3 のデータは、大部分の分析対象物の検量線で RF の RSD が 15 % 未満であることを示しています。しかし、エチオン (1 mL と 6 mL) の 2 本の検量線とクマホスの 1 本の検量線については、おそらくマトリックス効果のために、RF の RSD の値が 20 % を超えています。

回収率と再現性

回収率と再現性は、10、50 および 200 ng/g の 3 つのレベルの農薬標準資料を粉砕済みリンゴサンプルにスパイクする方法で評価しました。これらの QC サンプルは、マトリックススパイクの検量線に対して定量しました。添加レベルごとに分析を 6 回 (n=6) 実行しました。1 mL と 6 mL の分散 SPE サンプルに対する回収率と再現性 (RSD %) のデータを、それぞれ、表 4、5 に示します。この結果から分かるように、すべての農薬で良い回収率 (1 mL の場合、平均 84.7 %、6 mL の場合、平均 87.2 %) と精度 (1 mL の場合、RSD 平均 4.3 %、6 mL の場合、RSD 平均 5.1 %) が得られました。AOAC QuEChERS メソッドで抽出したこれらの農薬の結果 [13] と比べると、EN QuEChERS メソッドの回収率がやや低い (平均 5 ～ 6 % 低い) ものの、精度は同等 (どちらのメソッドでも RSD は平均 4 ～ 5 %) です。最初の抽出ステップで異なるバッファを使用し、溶媒量が違っていることが相違の要因と考えられます。

表 4. Agilent サンプリーク 分散 SPE の 2 mL 試験管 (部品番号 5982-5021) を使用した添加リンゴ抽出液中農薬の回収率と再現性。
回収率 84.7 %、RSD 4.3 % (平均値)

	10 ng/g 添加された QC		50 ng/g 添加された QC		200 ng/g 添加された QC	
分析対象物	回収率	RSD (n=6)	回収率	RSD (n=6)	回収率	RSD (n=6)
ジクロルボス	97.6	5.1	90.8	6.2	81.0	6.9
σ-フェニルフェノール	94.4	5.5	83.1	6.6	76.3	5.2
リンデン	87.4	4.9	80.0	6.1	73.3	3.8
ダイアジノン	83.6	5.6	79.6	5.5	69.6	5.0
クロロタロニル	68.3	4.9	71.8	5.8	69.6	5.0
クロルピリホスメチル	79.3	4.5	80.7	4.8	83.1	3.0
ジクロフルアニド	91.8	5.6	85.8	6.9	65.2	4.7
ジクロロベンゾフェノン	83.9	6.4	83.0	4.8	80.0	3.1
ヘプタクロルエポキシド	80.0	4.7	82.9	5.0	81.4	1.7
γ-クロルデン	79.6	4.3	80.5	5.4	78.3	1.6
DDE	80.5	3.2	80.3	5.1	76.8	1.2
α-クロルデン	84.8	3.3	83.1	4.7	78.6	1.3
ディルドリン	83.4	3.1	80.5	4.3	76.2	1.1
エチオン	97.7	4.4	104.9	4.8	91.7	1.4
硫酸エンドスルファン	93.2	5.4	88.5	4.5	87.9	1.1
ペルメスリン	88.8	6.2	93.9	4.6	104.3	0.7
クマホス	101.4	4.7	111.9	3.9	111.2	1.6

表 5. Agilent サンプリーク分散 SPE の 15 mL 試験管 (部品番号 5982-5056) を使用した添加リンゴ抽出液中農薬の回収率と再現性。回収率 87.2 %、RSD 5.1 % (平均値)

分析対象物	10 ng/g 添加された QC 回収率	RSD (n=6)	50 ng/g 添加された QC 回収率	RSD (n=6)	200 ng/g 添加された QC 回収率	RSD (n=6)
ジクロルボス	99.4	8.2	90.9	2.6	85.7	4.4
σ-フェニルフェノール	76.9	8.9	81.6	1.6	82.0	3.6
リンデン	87.8	7.0	88.9	2.7	86.3	2.7
ダイアジノン	87.0	8.3	86.6	1.8	89.3	2.7
クロロタロニル	71.7	11.1	77.9	1.8	75.9	3.8
クロルピリホスメチル	77.7	9.8	82.7	2.3	86.7	2.2
ジクロフルアニド	80.0	7.8	86.5	6.1	76.6	5.1
ジクロロベンゾフェノン	86.2	6.1	87.6	2.4	85.7	1.5
ヘプタクロルエポキシド	82.6	5.7	86.7	2.8	85.9	1.9
γ-クロルデン	89.6	7.1	85.1	2.9	83.6	2.1
DDE	91.9	5.5	88.7	3.5	83.8	1.8
α-クロルデン	90.3	4.4	88.0	3.1	84.0	1.3
ディルドリン	93.6	7.3	88.1	4.3	83.2	1.6
エチオン	81.0	6.7	94.2	4.0	91.1	1.7
硫酸エンドスルファン	96.4	5.3	91.2	3.9	89.8	1.2
ペルメスリン	89.3	5.6	95.5	3.9	108.9	1.3
クマホス	89.0	10.8	90.7	6.6	97.1	2.0

図 3 は、1 mL 分散 SPE と 6 mL 分散 SPE の回収率と精度を示しています。同じ抽出サンプルから 1 mL または 6 mL の ACN 抽出液を取りだし、2 種類の分散 SPE を用いてクリーンアップを行いました。比較を容易にするため、すべての農薬に対して、3 つの添加濃度の平均回収率と精度を使用しました。各分散 SPE クリーンアップの結果は、使用した量に依存しませんでした。どちらの方法も、サンプルクリーンアップの効率は類似しており、同等の結果が得られました。

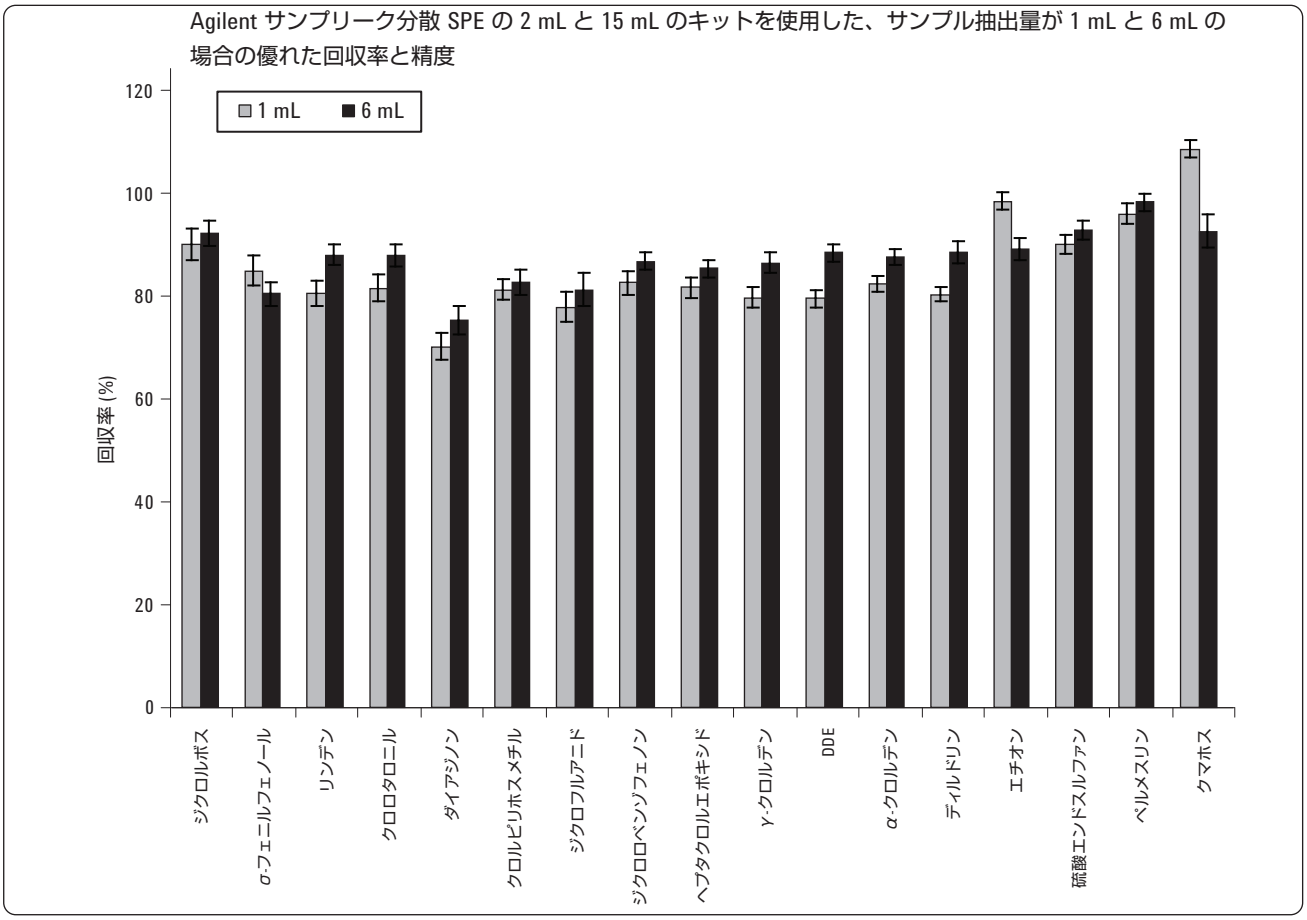


図 3.　Agilent サンプリーク分散 SPE の 2 mL と 15 mL のキットを使用した、サンプル抽出量が 1 mL と 6 mL の場合の回収率と精度

結論

一般的な果実と野菜用の Agilent サンプリーク QuEChERS EN 抽出および分散 SPE キットは、リンゴの代表的な揮発性および半揮発性農薬の精製と濃縮において簡単で、迅速で、効果的なメソッドです。標準溶液のスパイクに基づく回収率と再現性は、リンゴの様々な残留農薬の決定に必要な条件を満たしています。リンゴの不純物とマトリックス効果は、対象化合物の定量に影響しません。農薬の LOQ は、リンゴの規定された MRL より低い結果が得られました。様々な種類と特性を持つ代表的な農薬を選択したので、一般的な果実と野菜用の Agilent サンプリーク QuEChERS EN 抽出と分散 SPE キットは、同様の食物マトリックスの他の農薬に対して、優れた選択肢となります。

References

1. M. Anastassiades, S. J. Lehotay, Fast and Easy Multiresidue Method Employment Acetonitrile Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce, J. AOAC Int., 2003, 86, 412-431.
2. S. J. Lehotay, et al, "Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables," J. AOAC Int., 2005, 88, 615-629.
3. European Committee for Standardization/Technical Committee CEN/TC 275 (2007), Foods of plant origin: Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE-QuEChERS method. European Committee for Standardization, Brussels
4. P. Payá, M. Anastassiades, "Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection," Anal Bioanal Chem., 2007, 389, 1697-1714.
5. L. Zhao, D. Schultz, J. Stevens, "Evaluation of the QuEChERS En Kits for Sample Preparation Following the European Standard for the Analysis of Pesticide Residues in Apple with LC/MS/MS Detection," Agilent Technologies publication 5990-3938EN.
6. http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/en/index.htm
7. http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/search.html
8. http://www.mrldatabase.com/?selectvetdrug=0
9. http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/getfile?dDocName=PDP1995Summary
10. P. L. Wylie, C. K. Meng, "A Method for the Trace Analysis of 175 Pesticides Using the Agilent Triple Quadrupole GC/MS/MS," Agilent Technologies publication 5990-3578EN.
11. C. K. Meng, "バックフラッシュによる生産性の向上とカラム寿命の延長" 資料番号 5989-6018JAJP.
12. P. L. Wylie, "GC-ECD への直接注入による魚油中のPCB 分析: Deans スイッチデバイスを用いたバックフラッシングの結果" 資料番号 5989-6095JAJP.
13. L. Zhao, D. Schultz, J. Stevens, "Analysis of Pesticide Residues in Apple Using Agilent SampliQ QuEChERS AOAC Kits by GC/MS," Agilent Technologies publication 5990-4068EN.

詳細情報

アジレントの製品およびサービスの詳細は、弊社ウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2009
Published in Japan
June 3, 2009
5990-4073JAJP

Agilent Technologies